

游离胆固醇（FC）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1144

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/96T

检测范围：0.078mmol/L-5mmol/L 灵敏度：0.078mmol/L

适用样本：血清（浆）、动物组织、细胞、细菌

产品简介

游离胆固醇（FC）是构成细胞膜的主要成分，也是合成肾上腺皮质激素、性激素、胆汁酸及维生素 D 等生理活性物质的重要原料。组织游离胆固醇（FC）浓度可作为脂代谢的指标。本试剂盒提供了一种简单的检测方法，用于检测生物样本如动物组织、细胞（细菌）、血清（浆）中游离胆固醇（FC）的含量。胆固醇氧化酶催化游离胆固醇（FC）生成 Δ^4 -胆甾烯酮和 H_2O_2 ，过氧化物酶催化 H_2O_2 、4-氨基安替比林和酚生成红色醌类化合物，在 500nm 有吸收峰，其颜色深浅与 FC 含量成正比。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	7.5mL	15mL	4℃避光保存
试剂二	1	1	-20℃避光保存
试剂三	5mL	10mL	4℃保存
标准品	0.25mL	0.5mL	4℃避光保存
标准品稀释液	5mL	10mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 500nm 处的吸光度）

恒温箱、制冰机、低温离心机

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

异丙醇、去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准品稀释液：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：临用前 96T 加入 6mL 试剂三，48T 加入 3mL 试剂三充分混匀待用。用不完的试剂可 4℃保存一周或分装后-20℃保存，禁止反复冻融。

标准品：含 5mmol/L 胆固醇标准品；4℃避光保存。

工作液的配制：每孔配制 180μL 工作液：吸取 50μL 溶解后的试剂二，130μL 试剂一。工作液需现配现用，根据需要测定的样本数按比例配制。

标准曲线设置：按下表所示，用标准品稀释液将 5mmol/L 胆固醇标准品稀释为 5、2.5、1.25、0.625、0.313、0.156、0.078、0 mmol/L 的标准溶液。

	标准品体积	标准品稀释液体积 (μL)	标准品浓度 (mmol/L)
Std. 1	100μL 5mmol/L	0	5
Std. 2	50μL of Std. 1 (5mmol/L)	50	2.5
Std. 3	50μL of Std. 2 (2.5mmol/L)	50	1.25
Std. 4	50μL of Std. 3 (1.25mmol/L)	50	0.625
Std. 5	50μL of Std. 4 (0.625mmol/L)	50	0.313
Std. 6	50μL of Std. 5 (0.313mmol/L)	50	0.156
Std. 7	50μL of Std. 6 (0.156mmol/L)	50	0.078
Std. 8	0	100	0

注意：每次实验都需要新配制标准品。

样本制备

动物组织：称取约 0.1g 样本，加入 1mL 异丙醇，冰浴匀浆，8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

细胞或细菌：收集 500 万细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞，离心后弃上清，加入 1mL 异丙醇，冰浴超声波破碎细胞或细菌 5min（功率 20%或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次），8,000g，4℃离心 10min，取上清液，置冰上待测。

血清（浆）：直接测定。

注意：推荐使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存 6 个月。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 500nm，可见分光光度计去离子水调零；恒温箱预热到 37℃。工作液在 37℃中预热 30min 以上。

2. 样本游离胆固醇（FC）含量测定（在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂）：

	标准 (μL)	测定 (μL)
不同浓度标准品	20	0
样本	0	20
工作液	180	180

2. 混匀，37℃静置 30min，测定 500nm 处吸光值 A。标准孔记为 A_标，测定孔记为 A_测。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 A_测大于 2.0，样本可用异丙醇进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

1. 标准曲线的绘制

所有孔吸光值 A 减去零浓度 (Std. 8) 的吸光值得 ΔA。

以标准液浓度为 y 轴，ΔA_标为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 ΔA_测带入方程得到 y 值 (mmol/L 即 μmol/mL)。

2. 样本游离胆固醇（FC）含量计算

(1) 按样本质量计算

FC 含量 (μmol/g 质量) = $y \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div W \times n$

(2) 按细菌或细胞数量计算

FC 含量 (μmol/10⁴ cells) = $y \times V_{\text{样}} \div (\text{细胞数量} \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \times n = y \div 500 \times n = 0.002 \times y \times n$

(3) 按液体体积计算

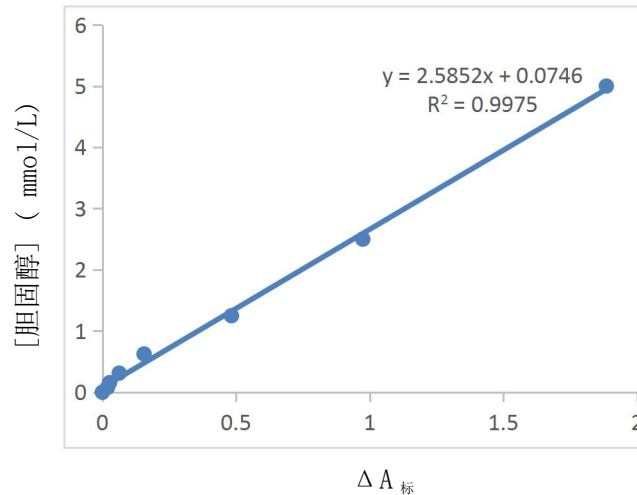
FC 含量 (μmol/mL) = $y \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样}} \times n = y \times n$

产品说明书

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.02mL; W : 样本质量, g; $V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; n : 样本稀释倍数; C_{pr} : 样本蛋白浓度, mg/mL; 500: 细胞数量, 500 万。

结果展示

典型标准曲线-数据和曲线仅供参考, 实验者需根据自己的实验建立标准曲线



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

相关产品:

PMK1142 甘油三酯 (TG) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1143 总胆固醇 (TC) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1137 游离脂肪酸 (FFA) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1151 血清高密度脂蛋白 (HDL-C) 检测试剂盒 (微量法)
PMK1152 血清低密度脂蛋白 (LDL-C) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

